

## Получение нейральных стволовых клеток и астроцитов из мезенхимальных стволовых клеток человека

Научный руководитель – Дутышева Елизавета Александровна

*Щеглова Алиса Игоревна*

*Студент (бакалавр)*

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,  
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: AliceScheglova25@gmail.com*

### Введение

Глимфатическая система играет важную роль в выведении нейротоксичных веществ, таких как амилоид бета ( $A\beta$ ), из паренхимы головного мозга. Нарушения в функционировании аквапорина 4, основного водного канала ЦНС, локализованного в отростках астроцитов, могут приводить к повышенному риску развития болезни Альцгеймера[1].

Целью исследования было отладить протокол получения нейральных стволовых клеток (НСК) и астроцитов из мезенхимальных стволовых клеток (МСК) человека для дальнейшего исследования дисфункции глимфатической системы при нейродегенеративных заболеваниях.

### Методы

Мы провели дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток DP (из пульпы молочного зуба) и WJ1 (из Вартонова студня пупочного канатика человека) в НСК в течение 10 дней. Этап индуцирования дифференцировки проводился три дня с использованием среды следующего состава: (DMEM/F12 с GlutaMax, 2% FBS, 0.2% Penicillin/Streptomycin, 1% добавки N2(100x) и EGF 10 ng/mL). Далее в течение 6 дней проходил этап пролиферации с использованием следующего состава культуральной среды: (DMEM/F12 с GlutaMax, 2% FBS, 0.2% Penicillin/Streptomycin, 2% добавки Нейромакс(50x), EGF 20 ng/mL и bFGF 20 ng/mL)[3]. С целью изучения профиля экспрессии и подтверждения дифференцировки клеток, была проведена кПЦР по маркерам SOX2, Notch, Nestin и Actin. В качестве контроля были использованы МСК WJ1 и DP.

Мы провели дифференцировку НСК DP и WJ1 в астроциты в течение трёх недель (DMEM/F12 с GlutaMax, 1% FBS, 0.2% Penicillin/Streptomycin, 1% добавки N2(100x)), также сравнили пассирование линий при помощи 0,05% трипсин-ЭДТА и аккутазы [2]. Проверка статуса дифференцирования производилась с помощью измерения уровня экспрессии маркеров ALDH1L1, s100b, Actin путем кПЦР. В качестве контроля были использованы НСК WJ1 и DP.

### Результаты

Обе линии МСК были успешно дифференцированы в НСК и астроциты, однако по данным кПЦР МСК WJ1 лучше прошли дифференцировку в НСК, а затем в астроциты по сравнению с DP. Пассажи́рование с применением аккутазы успешно сохраняло молекулярные маркеры дифференцировки в отличие от 0,05% трипсин-ЭДТА.

### Выводы

Таким образом, нами был отработан протокол получения астроцитов из МСК человека для дальнейшего моделирования, персонафицированной диагностики и терапии нейродегенеративных заболеваний, связанных с нарушениями в функционировании глимфатической системы.

Работа поддержана грантом РНФ №23-74-10117

### Источники и литература

- 1) Ciurea A.V. et al. The Brain's Glymphatic System: Drawing New Perspectives in Neuroscience // Brain Sciences 2023, 13, 1005
- 2) Hosseini K. et al. Differentiation of Human Embryonic Stem Cells into Neuron, Cholinergic, and Glial Cells // Stem Cells International 2020, 9 стр.
- 3) Kruminis-Kaszkiel E. et al. Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells from Wharton's Jelly Towards Neural Stem Cells Using a Feasible and Repeatable Protocol // Cells 2020, 9, 739